

明細書

バイオアッセイ用基板並びにバイオアッセイ装置及び方法

技術分野

本発明は、例えばDNAチップ等のバイオアッセイ用基板並びにバイオアッセイ用基板を用いてバイオアッセイを行うバイオアッセイ装置に関する。より詳細には、プローブ物質とサンプル物質との間の相互作用の場となる反応領域が形成されたバイオアッセイ用基板、並びに、当該反応領域に存在する蛍光標識剤から発生された蛍光を検出するバイオアッセイ装置及び方法に関する。

本出願は、日本国において2003年6月10日に出願された日本特許出願番号2003-165516を基礎として優先権を主張するものであり、この出願を参照することにより、この出願は本出願に援用される。

背景技術

現在、マイクロアレイ技術によって所定のDNAが微細配列された、いわゆるDNAチップ又はDNAマイクロアレイ（以下、DNAチップと総称する。）と呼ばれるバイオアッセイ用の基板が、遺伝子の突然変異、SNPs（一塩基多型）分析、遺伝子発現頻度解析等に利用されており、創薬、臨床診断、薬理ジェノミクス、法医学その他の分野において広範に活用され始めている。

このDNAチップは、ガラス基板やシリコン基板上に多種多数のDNAオリゴヌクレオチド鎖や、cDNA（complementary DNA）等が配置されていることから、ハイブリダイゼーション等の物質間の相互反応の網羅的解析が可能となる。

DNAチップを用いたDNA解析手法は、例えば、DNAチップ上に固相化（固定化）されたプローブDNAに対して、細胞、組織等から抽出したmRNA（messenger RNA）を逆転写PCR（Polymerase Chain Reaction）反応等によって蛍光プローブdNTPを組み込みながらPCR增幅してサンプルDNAを生成

し、そのサンプルDNAをDNAチップ上に滴下して、プロープDNAとサンプルDNAとをハイブリダイゼーションのハイブリダイゼーションを行い、所定の検出器で蛍光測定を行う。

ここで、例えば、特開2001-238674号公報及び特表2002-501174号公報に、DNAチップの形状を円板状として、光ディスクの分野で培われた基板技術をDNA解析に応用することが提案されている。

光ディスクの技術が応用されたDNA解析を行う場合、円板状にしたDNAチップを回転させながら蛍光標識から発生する蛍光を光検出器で検出し、その蛍光の発光位置をアドレッシング技術で特定するといったサーボ技術を適用することが可能となり、被処理サンプル物質数の増大並びに検出精度及び検出速度の向上を図ることができる。

しかしながら、従来のDNAチップ技術では、該DNAチップ自体の集積数、集積密度が少なかったので、一度のアッセイで達成できる解析量が十分とは言えず、検出用物質の種類と数、さらにはその基板上における配置分け（グルーピング）を、ユーザが自由に設定することが困難であった。

また、従来のDNAチップを用いた解析手法では、そのDNAチップの検出用物質の種類やグルーピングの情報、そのDNAチップによる解析結果、さらにはDNAチップの解析プログラム等を、別途異なる情報記録媒体に記録して用いていた。そのため、DNAチップと、解析結果等が記録されている情報記録媒体との連関が弱く、DNAチップと情報とを一体的に管理することが困難であった。

発明の開示

本発明は、より多様的に情報を取り扱うことができるようとしたバイオアッセイ用基板を提供し、また、そのバイオアッセイ用基板を用いてバイオアッセイを行うバイオアッセイ装置及び方法を提供することを目的とする。

本発明に係るバイオアッセイ用基板は、プロープ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイが行われるバイオアッセイ用基板であって、平板状に構成され、上記サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされるとと

もに上記プロープ物質が固定可能とされ、プロープ物質とサンプル物質との相互反応の場となり、上記蛍光標識剤に対する蛍光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域と、下側から光を照射することにより情報を記録及び／又は再生することが可能な情報領域とを有する。

このバイオアッセイ用基板では、物質間相互反応を生じさせる反応領域と、信号が記録される情報領域とを有する。

本発明に係るバイオアッセイ装置は、プロープ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイを行うバイオアッセイ装置であって、上記サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされるとともに上記プロープ物質が固定可能とされ、プロープ物質とサンプル物質との相互反応の場となり、上記蛍光標識剤に対する蛍光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域と、下側から光を照射することにより情報を記録及び／又は再生することが可能な情報領域とを有するバイオアッセイ用基板を、保持するとともに回転駆動させる基板保持手段と、上記バイオアッセイ基板の上記反応領域に対して所定の波長の蛍光を照射し、当該蛍光に応じて上記蛍光標識剤から発生される所定の波長の蛍光の有無を検出する蛍光検出光学系と、上記バイオアッセイ基板の上記情報領域に対して所定の波長の光を照射し、その反射光に基づき情報の記録及び／又は再生を行う情報記録／再生光学系とを備える。

このバイオアッセイ装置では、物質間相互反応を生じさせる反応領域と信号が記録される情報領域とを有するバイオアッセイ用基板に対して、物質間相互反応に基づくバイオアッセイを行うとともに、情報の記録及び／又は再生を行う。

本発明に係るバイオアッセイ方法は、プロープ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイを行うバイオアッセイ方法であって、上記サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされるとともに上記プロープ物質が固定可能とされ、プロープ物質とサンプル物質との相互反応の場となり、上記蛍光標識剤に対する蛍光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域と、下側から光を照射することにより情報を記録及び／又は再生することが可能な情報領域とを有するバイオアッセイ用基板を、保持するとともに回転駆動させ、上記バイオアッセイ基板の上記情報領域に対して所定の波長の光を照射し、その反

射光に基づき情報の記録及び／又は再生を行い、上記バイオアッセイ基板の上記反応領域に対して所定の波長の蛍光を照射し、当該蛍光に応じて上記蛍光標識剤から発生される所定の波長の蛍光の有無を検出する。

このバイオアッセイ方法では、物質間相互反応を生じさせる反応領域と信号が記録される情報領域とを有するバイオアッセイ用基板に対して、物質間相互反応に基づくバイオアッセイを行うとともに、情報の記録及び／又は再生を行う。

図面の簡単な説明

図1は、本発明の実施の形態のバイオアッセイ用基板の平面図及び断面図である。

図2は、上記バイオアッセイ用基板のDNA層の層構造を示す断面図である。

図3は、ウェルの底面に修飾されるOH基を有するシラン分子を示す図である。

図4は、ウェルの底面に結合したプローブDNAを示す図である。

図5は、本発明の実施の形態のDNA解析装置のブロック構成図である。

図6は、ウェルに対して溶液を滴下している動作を示す図である。

図7は、プローブDNAとサンプルDNAとの二重らせん内に蛍光標識剤が挿入されている状態を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を適用した具体的な実施の形態として、本発明を適用したDNA解析用のバイオアッセイ用基板及びこのバイオアッセイ用基板を用いてDNA解析を行うバイオアッセイ装置について説明をする。なお、本願において「バイオアッセイ」とは、ハイブリダイゼーションその他の物質間の相互反応に基づく生化学分析を意味する。

(バイオアッセイ用基板)

図1に本発明の実施の形態のバイオアッセイ用基板1の上面(図1(A))及び断面(図1(B))を模式的に表した図を示す。

バイオアッセイ用基板1は、例えば、CD (Compact Disk) 、DVD (Digital Versatile Disk) 等の光ディスクと同様の主面が円形の平板状の形状を呈している。また、バイオアッセイ用基板1の円の中心には、中心孔2が形成されている。中心孔2には、当該バイオアッセイ用基板1がDNA解析装置に装着されたときに、当該バイオアッセイ用基板1を保持及び回転させるためのチャッキング機構が挿入される。

バイオアッセイ用基板1の円形の主面は、図1 (A) に示すように、半径方向に同心円状に形成された記録領域3及び反応領域4の2つの領域に分けられている。本例では、記録領域3が内周側に位置し、反応領域4が外周側に位置している。記録領域3が外周側に位置し、反応領域4が内周側に位置してもよい。記録領域3は、光ディスク情報記録媒体と同様に、レーザ光を照射して光学的に情報の記録再生がされる領域である。反応領域4は、プローブDNA (検出用ヌクレオチド鎖) とサンプルDNA (標的ヌクレオチド鎖) との相互反応の場、具体的にはハイブリダイゼーション反応の場となる領域である。

バイオアッセイ用基板1の層構造は、図1 (B) に示すように、情報層5とDNA層6とから形成されている。ここでは、情報層5が下層、DNA層6が上層に位置するものとする。また、バイオアッセイ用基板1のDNA層6側の表面を上面1a、情報記録層5側の表面を下面1bというものとする。

情報層5には、記録領域3に対応する平面領域に、例えばピットや相変化材料等のレーザ光が照射されることによりデータの再生又は記録再生がされる信号記録膜7が形成されている。このような信号記録膜7は、CD (Compact Disk) 、DVD (Digital Versatile Disk) 等の光ディスクと同様のディスク作成方法により形成することができる。

信号記録膜7は、バイオアッセイ用基板1の下面1b側からレーザ光を照射することにより、信号の再生又は記録再生がされる。また、情報層5は、DNA解析時に照射される蛍光及び制御光、並びに、DNA解析時に蛍光標識剤から発光される蛍光の波長を透過する材料により形成されている。例えば、情報層5は、石英ガラス、シリコン、ポリカーボネート、ポリスチレン等の材料で形成されている。なお、蛍光、制御光及び蛍光については詳細を後述する。

DNA層6は、図2に示すように、下層側から（すなわち情報層5側から）、基板層10と、透明電極層11と、固相化層12と、ウェル形成層13とから形成された層構造となっている。

基板層10は、詳細を後述する蛍光及び制御光並びに蛍光の波長の光を透過する材料である。例えば、基板層10は、石英ガラス、シリコン、ポリカーボネート、ポリスチレン等の材料で形成されている。

透明電極層11は、基板層10上に形成された層である。透明電極層11は、例えばITO（インジウムースズーオキサイド）等の光透過性がありかつ導電性を有する材料から形成されている。透明電極層11は、基板層10上に例えばスパッタリングや電子ビーム蒸着等により250nm程度の厚さに成膜される形成される。

固相化層12は、透明電極層11上に形成された層である。固相化層12は、プローブDNAの一端を固相化させるための材料から形成されている。本例では、固相化層12は、シランにより表面修飾可能なSiO₂が、例えばスパッタリングや電子ビーム蒸着により50nm程度の厚さに成膜された層となっている。

ウェル形成層13は、固相化層12上に形成された層である。ウェル形成層13は、プローブDNAとサンプルDNAとの間のハイブリダイゼーション反応を起こさせる複数のウェル8が形成された層である。ウェルは、バイオアッセイ用基板1の上面1aが開口したくぼみ状となっており、サンプルDNAが含まれた溶液等が滴下されたときにその溶液を保留することができる程度の深さ及び大きさとなっている。例えば、ウェル8は、開口部が100μm四方の大きさに形成され、深さが5μm程度とされて、底面14に固相化層12が露出している。このようなウェル形成層13は、例えば、固相化層12上に感光性ポリミドをスピニコート等で5μm程度の厚さに塗布し、塗布した感光性ポリミドを所定のパターンでフォトマスクを用いて露光及び現像することで形成される。

更に、ウェル8は、一端が官能基により修飾されたプローブDNAが底面14（固相化層12が露出した部分）に結合するように、当該底面14が官能基により表面修飾されている。例えば、ウェル8は、図3に示すように、OH基16を有するシラン分子17により、底面14（SiO₂から形成されている固相化層1

2) が表面修飾されている。このため、ウェル8の底面14には、例えばNCO基で一端が修飾されたプローブDNAを結合させることができる。このようにバイオアッセイ用基板1では、ウェル8の底面14に、プローブDNAの一端を結合させることができるので、図4に示すように、底面14から垂直方向に鎖が伸びるように、プローブDNA (P) を結合させることができる。

また、バイオアッセイ用基板1では、図1に示すように、複数のウェル8が、主面の中心から外周方向に放射状に向かう複数の列上に、例えば400μm程度の間隔で等間隔に並んで配置されている。ただし、ここでは、ウェル8が形成される平面領域は、反応領域4の範囲である。

また、バイオアッセイ用基板1には、バイオアッセイ用基板1の下面1b側からレーザ光を照射することにより読み取り可能なアドレスピット9が形成されている。アドレスピット9は、バイオアッセイ用基板1の平面上における各ウェル8の位置を特定するための情報である。アドレスピット9から情報を光学的に読み取ることによって、複数存在するウェル8のうち、現在レーザ光を照射している位置の1つのウェル8がどれであるかを特定することが可能となる。このようなアドレスピット9が設けてあることによって、後述する滴下装置による溶液の滴下位置の制御や、対物レンズによる蛍光検出位置の特定を行うことができる。

以上のようなバイオアッセイ用基板1では、円板状に形成されているため、光ディスクシステムと同様の再生システムを利用することにより、レーザ光のフォーカシング位置を制御するためのフォーカシングサーボ制御、半径方向に対するレーザ光の照射位置や滴下装置による滴下位置の制御のための位置決めサーボ制御、並びに、アドレスピット9の情報検出処理をすることができる。つまり、アドレスピット9に記録してある情報内容と、そのアドレスピット9の近傍にあるウェル8とを対応させておくことにより、アドレスピット9の情報を読み出すことで、特定の1つのウェル8に対してのみレーザ光を照射して蛍光が発光しているウェル8の位置を特定したり、特定の1つのウェル8の位置と滴下装置との相対位置を制御して、その特定の1つのウェル8に対して溶液を滴下したりすることができる。

また、更に、バイオアッセイ用基板1では、バイオアッセイ用の物質間の相互

反応を起こさせる領域（ウェル8）とともに、光ディスクと同様に各種の情報の記録再生を行う信号記録膜7が形成されており、円板状に形成した基板をより有用かつ多様的に利用することが可能となる。

例えば、バイオアッセイ用基板1に、「バイオアッセイ用基板1の動作制御に関する情報」、「ウェル8に固相化されているプローブDNAに関する情報」、「検査結果に関する情報」等を記録することができる。

バイオアッセイ用基板1の動作制御に関する情報の具体例としては、例えば、バイオアッセイ用基板1を用いてDNAの解析を行う際の検査プログラム、その検査に必要な各種のデータ、検査プログラムのアップデート情報、当該バイオアッセイ用基板1や解析装置の取り扱い説明書、検査処理の手順等を記録する。

このようなバイオアッセイ用基板1の動作制御に関する情報を、物質間の相互反応を起こさせる領域とともに同一基板に記録することによって、動作制御に関連する情報を別の記録媒体に記録して頒布する必要がなくなる。

また、ウェル8に固相化されているプローブDNAに関する情報の具体例としては、各ウェル8に配置されているプローブDNAの種別やその配置位置、各ウェル8内のプローブDNAの説明、プローブDNAと疾病との関係、バイオアッセイ用基板1の製造者や製造日時等を記録する。

このようなウェル8に固相化されているプローブDNAに関する情報を、そのプローブDNAが固相化されている同一基板に記録することによって、バイオアッセイ用基板1の管理を確実かつ容易に行うことが可能となる。

また、検査結果に関する情報の具体例としては、被検査者に関する情報（名前、年齢、性別等）、検査日時、検査場所、検査者、検査結果データ（反応領域から読み取った生データ）、検査結果に基づくDNA解析結果（ビジュアル的な検査結果データや疾病との関連付けを示すデータ等）、その被検査者の過去の検査結果（検査履歴）、その被検査者の他の検査結果等を記録する。

このような検査結果に関する情報を、検査結果のソースとなるサンプルDNAがハイブリダイゼーションされた同一基板に記録することによって、検査結果の取り扱いが確実かつ容易になる。

バイオアッセイ用基板1では、以上のような情報に限らず、他のデータも記録

することももちろん可能である。

なお、バイオアッセイ用基板1では、正面を記録領域3と反応領域4との2つの領域に分けているが、記録領域3と反応領域4とが平面領域上で重なっていてもよい。この場合には、信号記録膜7の位置が反応領域4から厚み方向に、蛍光を励起するために照射するレーザ光（詳細を後述する蛍光）や制御用のレーザ光（詳細を後述する制御光）の焦点深度より離間した位置に形成されればよい。つまり、光ディスクの2層記録と同様に焦点の手前に信号記録膜7が位置すれば、反応領域4に充分到達するためである。

（DNA解析装置）

次ぎに、上述したバイオアッセイ用基板1を用いてDNA解析を行うDNA解析装置21について、図5を参照して説明をする。

DNA解析装置21は、図5に示すように、バイオアッセイ用基板1を保持して回転をさせるディスク装填部22と、ハイブリダイゼーションのための各種溶液を貯留するとともにバイオアッセイ用基板1のウェル8にその溶液を滴下する滴下部23と、バイオアッセイ用基板1のウェル8から蛍光を検出するための蛍光検出部24と、上記の各部の管理及び制御を行う制御／サーボ部25と、バイオアッセイ用基板1の信号記録膜7に対して信号の記録再生を行う記録再生部26とを備えている。

ディスク装填部22は、バイオアッセイ用基板1の中心孔2内に挿入して当該バイオアッセイ用基板1を保持するチャッキング機構31と、チャッキング機構31を駆動することによりバイオアッセイ用基板1を回転させるスピンドルモータ32と有している。ディスク装填部22は、上面1a側が上方向となるようにバイオアッセイ用基板1を水平に保持した状態で、当該バイオアッセイ用基板1を回転駆動する。

滴下部23は、試料溶液Sを貯留する貯留部33と、貯留部33内の試料溶液Sをバイオアッセイ用基板1に滴下する滴下ヘッド34とを有している。滴下ヘッド34は、水平に装填されたバイオアッセイ用基板1の上面1aの上方に配置されている。更に、滴下ヘッド34は、バイオアッセイ用基板1のアドレスピット9から読み出される位置情報及び回転同期情報に基づいてバイオアッセイ用基

板1との相対位置を半径方向に制御し、プロープDNA、サンプルDNA又は蛍光標識剤を含有する試料溶液Sを所定のウェル8に正確に追従して滴下する構成とされている。

蛍光検出部24は、光学ヘッド40を有している。光学ヘッド40は、水平に装填されたバイオアッセイ用基板1の下方側、すなわち、下面1b側に配置されている。光学ヘッド40は、例えば、図示していないスレッド機構等により、バイオアッセイ用基板1の半径方向に移動自在とされている。

光学ヘッド40は、対物レンズ41と、対物レンズ41を移動可能に支持する2軸アクチュエータ42と、導光ミラー43とを有している。対物レンズ41は、その中心軸がバイオアッセイ用基板1の表面に対して略垂直となるように2軸アクチュエータ42に支持されている。したがって、対物レンズ41は、バイオアッセイ用基板1の下方側から入射された光束を当該バイオアッセイ用基板1に対して集光することができる。2軸アクチュエータ42は、バイオアッセイ用基板1の表面に対して垂直な方向、及び、バイオアッセイ用基板1の半径方向の2方向に対物レンズ41を移動可能に支持している。2軸アクチュエータ42を駆動することにより、対物レンズ41により集光された光の焦点を、バイオアッセイ用基板1の表面に対して垂直な方向及び半径方向に移動させることができる。したがって、この光学ヘッド40では、光ディスクシステムにおけるジャストフォーカス制御並びに位置決め制御と同様の制御を行うことができる。

導光ミラー43は、光路X上に対して45°の角度で配置されている。光路Xは、蛍光P、蛍光F、制御光V及び反射光Rが、光学ヘッド40に対して入射及び出射する光路である。導光ミラー43には、蛍光P及び制御光Vが光路X上から入射される。導光ミラー43は、蛍光P及び制御光Vを反射して90°屈折させて、対物レンズ41に入射する。対物レンズ41に入射された蛍光P及び制御光Vは、当該対物レンズ41により集光されてバイオアッセイ用基板1に照射される。また、導光ミラー43には、蛍光F及び制御光Vの反射光Rが、バイオアッセイ用基板1から対物レンズ41を介して入射される。導光ミラー43は、蛍光F及び反射光Rを反射して90°屈折させて、光路X上に出射する。なお、光学ヘッド40をスレッド移動させる駆動信号及び2軸アクチュエータ42を駆動

する駆動信号は、制御／サーボ部 25 から与えられる。

また、蛍光検出部 24 は、蛍光 P を出射する蛍光源 44 と、蛍光源 44 から出射された蛍光 P を平行光束とするコリメータレンズ 45 と、コリメータレンズ 45 により平行光束とされた蛍光 P を光路 X 上で屈折させて導光ミラー 43 に照射する第 1 のダイクロックミラー 46 とを有している。

蛍光源 44 は、蛍光標識剤を励起可能な波長のレーザ光源を有する発光手段である。蛍光源 44 から出射される蛍光 P は、ここでは波長が 405 nm のレーザ光である。なお、蛍光 P の波長は、蛍光標識剤を励起できる波長であればどのような波長であってもよい。コリメータレンズ 45 は、蛍光源 44 から出射された蛍光 P を平行光束にする。第 1 のダイクロックミラー 46 は、波長選択性を有する反射鏡であり、蛍光 P の波長の光のみを反射して、蛍光 F 及び制御光 V (その反射光 R) の波長の光を透過する。第 1 のダイクロックミラー 46 は、光路 X 上に 45° の角度を持って挿入されており、コリメータレンズ 45 から出射された蛍光 P を反射して 90° 屈折させ、導光ミラー 43 に蛍光 P を照射している。

また、蛍光検出部 24 は、蛍光 F を検出するアバランジエフェトダイオード 47 と、蛍光 F を集光する集光レンズ 48 と、光学ヘッド 40 から光路 X 上に出射された蛍光 F を屈折させてアバランジエフェトダイオード 47 に照射する第 2 のダイクロックミラー 49 とを有している。

アバランジエフェトダイオード 47 は、非常に感度の高い光検出器であり、微弱な光量の蛍光 F を検出することが可能である。なお、アバランジエフェトダイオード 47 により検出する蛍光 F の波長は、ここでは 470 nm 程度である。また、この蛍光 F の波長は、蛍光標識剤の種類により異なるものである。集光レンズ 48 は、アバランジエフェトダイオード 47 上に蛍光 F を集光するためのレンズである。第 2 のダイクロックミラー 49 は、光路 X 上に 45° の角度を挿入されているとともに、導光ミラー 43 側から見て第 1 のダイクロックミラー 46 の後段に配置されている。したがって、第 2 のダイクロックミラー 49 には、蛍光 F、制御光 V 及び反射光 R が入射し、蛍光 P は入射しない。第 2 のダイクロックミラー 49 は、波長選択性を有する反射鏡であり、蛍光 F の波長の光のみを反射して、制御光 (反射光 R) の波長の光を透過する。第 2 のダイクロックミラー 4

9は、光学ヘッド40の導光ミラー43から出射された蛍光Fを反射して90°屈折させ、集光レンズ48を介してアバランジエフェトダイオード47に蛍光Fを照射する。

アバランジエフェトダイオード47では、このように検出した蛍光Fの光量に応じた電気信号を発生し、その電気信号を制御／サーボ部25に供給する。

また、蛍光検出部24は、制御光Vを出射する制御光源50と、制御光源50から出射された制御光Vを平行光束とするコリメータレンズ51と、制御光Vの反射光Rを検出するフォトディテクト回路52と、非点収差を生じさせてフォトディテクト回路52に対して反射光Rを集光するシリンドリカルレンズ53と、制御光Vと反射光Rとを分離する光セパレータ54とを有している。

制御光源50は、例えば780nmの波長のレーザ光を出射するレーザ光源を有する発光手段である。なお、制御光Vの波長は、アドレスピット9が検出でき、かつ、信号記録膜7に対して情報の記録及び再生ができる波長に設定されている。更に、制御光Vの波長は、蛍光P及び蛍光Fの波長と異なった波長に設定されている。このような波長であれば、制御光Vの波長は、780nmに限らずどのような波長であってもよい。コリメータレンズ51は、制御光源50から出射された制御光Vを平行光束にする。平行光束とされた制御光Vは光セパレータ54に入射される。

フォトディテクト回路52は、反射光Rを検出するディテクタと、検出した反射光Rからフォーカスエラー信号、位置決めエラー信号、及び、アドレスピット9の再生信号、並びに、信号記録膜7の再生信号を生成する信号生成回路とを有している。反射光Rは、制御光Vがバイオアッセイ用基板1で反射して生成された光であるので、その波長は、制御光と同一の780nmである。

なお、光学ヘッド40によりバイオアッセイ用基板1の反応領域4（外周側の領域）にレーザ光を照射している場合、フォーカスエラー信号は、対物レンズ32により集光された光の合焦位置とバイオアッセイ用基板1のDNA層6との位置ずれ量を示すエラー信号となり、位置決めエラー信号は、所定のウェル8の位置と焦点位置とのディスク半径方向に対する位置ずれ量を示す信号となる。光学ヘッド40によりバイオアッセイ用基板1の記録領域3（内周側の領域）にレー

ザ光を照射している場合、フォーカスエラー信号は、対物レンズ32により集光された光の合焦位置と信号記録膜7との位置ずれ量を示すエラー信号となり、位置決めエラー信号は、信号記録膜7のトラック位置と焦点位置とのディスク半径方向に対する位置ずれ量を示す信号となる。

アドレスピット9の再生信号は、反応領域4（外周側の領域）にレーザ光を照射している場合のみに検出され、バイオアッセイ用基板1に記録されているアドレスピット9に記述されている情報内容を示す信号である。この情報内容を読み出すことにより、現在、制御光Vを照射しているウェル8を特定することができる。

信号記録膜7の再生信号は、記録領域3（内周側の領域）にレーザ光を照射している場合のみに検出され、信号記録膜7のトラックに記録されている情報内容を示す信号である。

フォトディテクト回路52は、反射光Rに基づき生成されたフォーカスエラー信号、位置決めエラー信号及びアドレスピット9の再生信号を制御／サーボ部25に供給する。

シリンドリカルレンズ53は、フォトディテクト回路52上に反射光Rを集光するとともに非点収差を生じさせるためのレンズである。このように非点収差を生じさせることによりフォトディテクト回路52によりフォーカスエラー信号を生成させることができる。

光セパレータ54は、偏向ビームスプリッタからなる光分離面54aと1/4波長板54bにより構成されている。光セパレータ54では、1/4波長板54bの逆側から入射された光を光分離面54aが透過し、その透過光の反射光が1/4波長板54b側から入射された場合には光分離面54aが反射する機能を有している。光セパレータ54は、光分離面54aが光路X上に45°の角度を挿入されているとともに、導光ミラー43側から見て第2のダイクロックミラー49の後段に配置されている。したがって、光セパレータ54では、コリメータレンズ51から出射された制御光Vを透過して光学ヘッド40内の導光ミラー43に対してその制御光Vを入射させているとともに、光学ヘッド40の導光ミラー43から出射された反射光Rを反射することにより90°屈折され、シリンドリ

カルレンズ53介してフォトディテクト回路52に反射光Rを照射する。

制御／サーボ部25は、蛍光検出部24により検出されたフォーカスエラー信号、位置決めエラー信号及びアドレスピット9の再生信号に基づき、各種のサーボ制御を行う。

反応領域4（外周側の領域）にレーザ光を照射している場合には、制御／サーボ部25は、フォーカスエラー信号に基づき光学ヘッド40内の2軸アクチュエータ42を駆動して対物レンズ41とウェル8との間の間隔を制御し、位置決めエラー信号に基づき光学ヘッド40内の2軸アクチュエータ42を駆動して対物レンズ41とウェル8との半径方向の位置関係を制御し、アドレスピット9の再生信号に基づき光学ヘッド40のスレッド移動制御を行って光学ヘッド40を所定の半径位置に移動する。

記録領域3（内周側の領域）にレーザ光を照射している場合には、制御／サーボ部25は、フォーカスエラー信号に基づき光学ヘッド40内の2軸アクチュエータ42を駆動して対物レンズ41と信号記録膜7との間の間隔を制御し、位置決めエラー信号に基づき光学ヘッド40内の2軸アクチュエータ42を駆動して対物レンズ41と信号記録膜7の記録トラックとの半径方向の位置関係を制御する。

記録再生部26は、情報記録層7に記録されているデータの再生信号の復調及び復号処理を行ってデータを出力するとともに、情報記録層7に記録する記録データの符号化及び変調を行う。記録再生部26は、再生時には、蛍光検出部24から出力された再生信号が入力され、外部に復調及び復号したデータを出力する。また、記録再生部26は、記録時には、外部から記録データが入力され、符号化及び変調がされたデータを蛍光検出部24に供給して、制御光Vを出射する制御光源50を駆動する。

以上のような構成のDNA解析装置21では、バイオアッセイを行う場合には、次のような動作を行う。

DNA解析装置21は、バイオアッセイ用基板1を回転させながら、図6に示すようにウェル8上にサンプルDNA(S)が含有した溶液を滴下し、プローブDNA(P)とサンプルDNA(S)とを相互反応(ハイブリダイゼーション)

させる。また、ハイブリダイゼーション処理の済んだバイオアッセイ用基板1上に蛍光標識剤Mを含んだバッファ溶液を滴下して、図7に示すようにプローブDNA (P) とサンプルDNA (S) との二重らせん内に蛍光標識剤Mを挿入する。

また、DNA解析装置21は、蛍光標識剤が滴下された後のバイオアッセイ用基板1を回転させ、蛍光Pを当該バイオアッセイ用基板1の下面1b側から入射させてウェル8内の蛍光標識剤に照射し、その蛍光Pに応じてその蛍光標識剤から発生した蛍光Fをバイオアッセイ用基板1の下方から検出する。

ここで、DNA解析装置21では、蛍光Pと制御光Vとを同一の対物レンズ41を介してバイオアッセイ用基板1に照射している。そのため、DNA解析装置21では、制御光Vを用いたフォーカス制御、位置決め制御並びにアドレス制御を行うことによって、蛍光Pの照射位置、すなわち、蛍光Fの発光位置を特定することが可能となり、その蛍光の発光位置からサンプルDNAと結合したプローブDNAを特定することができる。

また、以上のような構成のDNA解析装置21では、データの記録及び再生時には、次のような動作を行う。

DNA解析装置21は、蛍光Pの出射を停止して、制御光Vのみを出射する。そして、バイオアッセイ用基板1を回転させながらサーボ制御を行い、信号記録膜7上のトラックに対して、データの記録又は再生を行う。

(DNA解析方法)

次ぎに、DNA解析方法について説明をする。

最初に、バイオアッセイ用基板1をDNA解析装置21のディスク装填部22に水平に装填する。

続いて、DNA解析装置21により、アドレスピット9に基づく位置制御を行なながらバイオアッセイ用基板1を回転させ、滴下ヘッド34から、一端がNC○基等で修飾されたプローブDNAが含有した溶液を所定のウェル8に対して滴下する。このとき、1つのバイオアッセイ用基板1に対して、複数種類のプローブDNAが滴下する。ただし、1つのウェル8内には1種類のプローブDNAが入るようにする。なお、各ウェル8にいずれの種類のプローブDNAを滴下するかは、予めウェルとプローブDNAとの対応関係を示す配置マップ等を信号記録

膜7から読み出しておき、その配置マップに基づき滴下制御する。

続いて、バイオアッセイ用基板1の上面1a側から、電極をウェル8内の溶液に挿入して、1MV/m、1MHz程度の交流電界を各ウェル8に印加する。このように交流電界を印加すると、プローブDNAがバイオアッセイ用基板1に対して垂直方向に伸張するとともに、プローブDNAをバイオアッセイ用基板1に垂直方向に移動させて、予め表面修飾処理がされた底面14に対して、プローブDNAの修飾端を結合させ、ウェル8内にプローブDNAを固相化（固定化）することができる（Masao Washizu and Osamu Kurosawa：“Electrostatic Manipulation of DNA in Microfabricated Structures”，IEEE Transaction on Industrial Application Vol. 26, No26, P. 1165-1172 (1990) 参照）。

続いて、DNA解析装置21により滴下ヘッド34からサンプルDNAが含有した溶液をバッファ塩を含む溶液とともに、バイオアッセイ用基板1上の各ウェル8に滴下する。

続いて、サンプルDNAの滴下後、バイオアッセイ用基板1を恒温層等に移し、ウェル8内を数十度に加熱し、加熱した状態のまま1MV/m、1MHz程度の交流電界を印加する。このような処理をすると、サンプルDNAとプローブDNAとが垂直方向に伸張して立体障害の少ない状態となるとともに、サンプルDNAがバイオアッセイ用基板1に対して垂直方向に移動する。この結果、互いの塩基配列が対応したサンプルDNAとプローブDNAとが同一のウェル8内にある場合には、それらがハイブリダイゼーションを起こす。

続いて、ハイブリダイゼーションを起こさせた後に、DNA解析装置21により、インターラーカレータ等の蛍光標識剤を、バイオアッセイ用基板1のウェル8内に滴下する。このような蛍光標識剤は、ハイブリダイゼーションを起こしたプローブDNAとサンプルDNAとの二重らせんの間に挿入して結合する。

続いて、バイオアッセイ用基板1の表面1aを純水等で洗浄し、ハイブリダイゼーションを起こしていないウェル8内のサンプルDNA及び蛍光標識剤を除去する。この結果、ハイブリダイゼーションを起こしたウェル8内にのみ、蛍光標識剤が残存することとなる。

続いて、DNA解析装置21により、制御光Fを用いてフォーカスサーボ制御

及び位置決めサーボ制御並びにアドレス制御を行いながらバイオアッセイ用基板1を回転させ、蛍光Pを所定のウェル8に照射する。この蛍光Pの照射とともに、アドレス情報を検出しながら蛍光Fが発生しているか否かを検出する。

続いて、DNA解析装置21は、バイオアッセイ用基板1上の各ウェル8の位置と蛍光Fの発光の有無を示すマップ作成する。そして、その作成したマップ、並びに、各ウェル8にどのような塩基配列のプローブDNAが滴下されていたかを示す配置マップに基づき、サンプルDNAの塩基配列の解析を行う。この解析の結果を参照して、信号記録膜7に記録されているプローブDNAと疾病との関係の情報に基づき、例えば疾病との関係等を解析してもよい。

そして、DNA解析装置21は、その解析結果や、検出した配置マップ等をバイオアッセイ用基板1の信号記録膜7に記録して保存する。

なお、本発明は、図面を参照して説明した上述の実施例に限定されるものではなく、添付の請求の範囲及びその主旨を逸脱することなく、様々な変更、置換又はその同等のものを行うことは当業者にとって明らかである。

産業上の利用可能性

本発明に係るバイオアッセイ用基板では、物質間相互反応を生じさせる反応領域と、信号が記録される情報領域とを有する。また、本発明に係るバイオアッセイ装置及び方法では、物質間相互反応を生じさせる反応領域と信号が記録される情報領域とを有するバイオアッセイ用基板に対して、物質間相互反応に基づくバイオアッセイを行うとともに、情報の記録及び／又は再生を行う。

のことにより、本発明に係るバイオアッセイ用基板では、より多様的な使用をユーザに行わせることができる。また、本発明に係るバイオアッセイ装置及び方法では、円板状のバイオアッセイ用基板をより多様的に用いることができる。

請求の範囲

1. プローブ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイが行われるバイオアッセイ用基板において、

平板状に構成され、

上記サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされるとともに上記プローブ物質が固定可能とされ、プローブ物質とサンプル物質との相互反応の場となり、上記蛍光標識剤に対する蛍光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域と、

下側から光を照射することにより情報を記録及び／又は再生することが可能な情報領域とを有すること

を特徴とするバイオアッセイ用基板。

2. 上層部と、その下側に形成された下層部とを有する基板から構成され、

上記上層部は、上記反応領域を有し、

上記下層部は、上記情報領域を有すること

を特徴とする請求の範囲第1項記載のバイオアッセイ用基板。

3. 上記情報領域は、上記反応領域から基板の厚み方向に上記光の焦点深度より離間した位置に形成されていること

を特徴とする請求の範囲第2項記載のバイオアッセイ用基板。

4. プローブ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイを行うバイオアッセイ装置において、

上記サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされるとともに上記プローブ物質が固定可能とされ、プローブ物質とサンプル物質との相互反応の場となり、上記蛍光標識剤に対する蛍光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域と、下側から光を照射することにより情報を記録及び／又は再生することが可能な情報領域とを有するバイオアッセイ用基板を、保持するとともに回転駆動させる基板保持手段と、

上記バイオアッセイ基板の上記反応領域に対して所定の波長の蛍光を照射し、当該蛍光に応じて上記蛍光標識剤から発生される所定の波長の蛍光の有無を検出

する蛍光検出光学系と、

上記バイオアッセイ基板の上記情報領域に対して所定の波長の光を照射し、その反射光に基づき情報の記録及び／又は再生を行う情報記録／再生光学系とを備えることを特徴とするバイオアッセイ装置。

5. 上記バイオアッセイ用基板は、全体が円板状に形成され、

上記基板保持手段は、円板中心を軸に回転駆動すること

を特徴とする請求の範囲第4項記載のバイオアッセイ装置。

6. 上記バイオアッセイ用基板は、上層部とその下側に形成された下層部とを有する基板から構成され、上記上層部に上記反応領域を有し、上記下層部に上記情報領域を有すること

を特徴とする請求の範囲第4項記載のバイオアッセイ装置。

7. 上記情報領域は、上記反応領域から基板の厚み方向に上記蛍光及び情報記録用の光の焦点深度より離間した位置に形成されていること

を特徴とする請求の範囲第6項記載のバイオアッセイ装置。

8. プローブ物質とサンプル物質との相互反応に基づくバイオアッセイを行うバイオアッセイ方法において、

上記サンプル物質及び蛍光標識剤が上側から滴下可能とされるとともに上記プローブ物質が固定可能とされ、プローブ物質とサンプル物質との相互反応の場となり、上記蛍光標識剤に対する蛍光が下側から照射される複数のウェルが形成された反応領域と、下側から光を照射することにより情報を記録及び／又は再生することが可能な情報領域とを有するバイオアッセイ用基板を、保持するとともに回転駆動させ、

上記バイオアッセイ基板の上記情報領域に対して所定の波長の光を照射し、その反射光に基づき情報の記録及び／又は再生を行い、

上記バイオアッセイ基板の上記反応領域に対して所定の波長の蛍光を照射し、当該蛍光に応じて上記蛍光標識剤から発生される所定の波長の蛍光の有無を検出すること

を特徴とするバイオアッセイ方法。

1 / 4

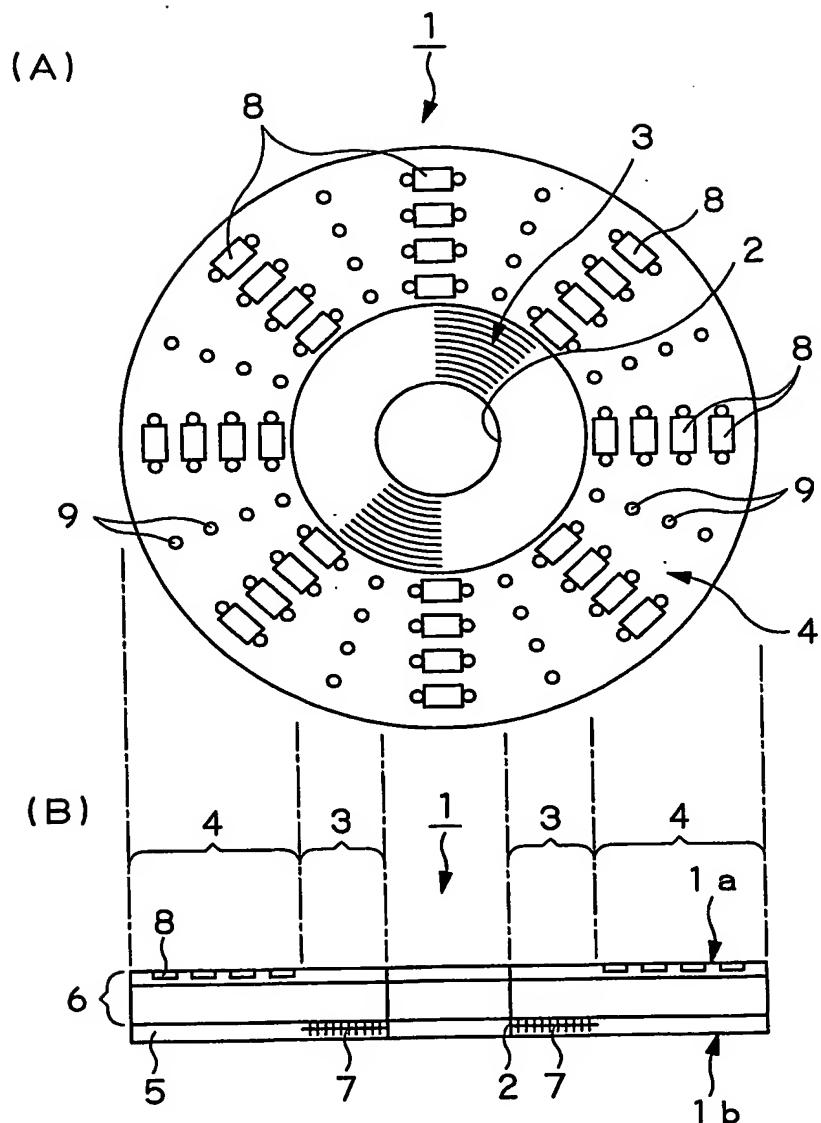


FIG. 1

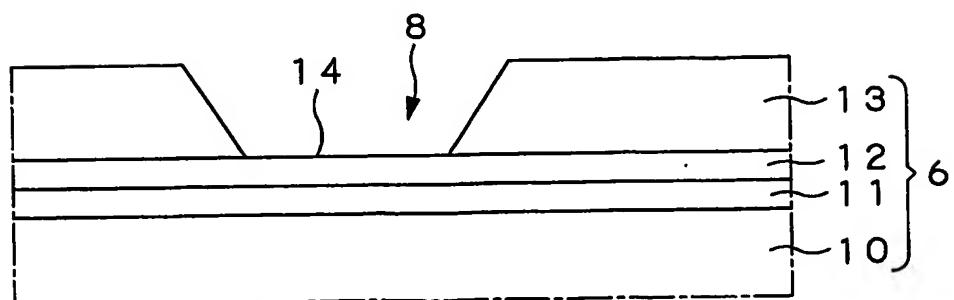
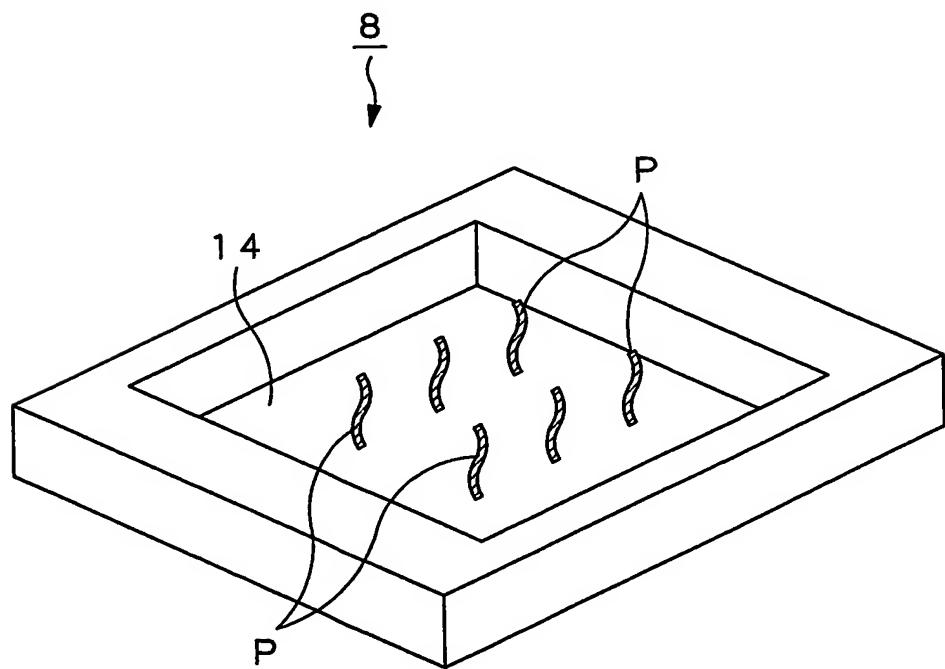
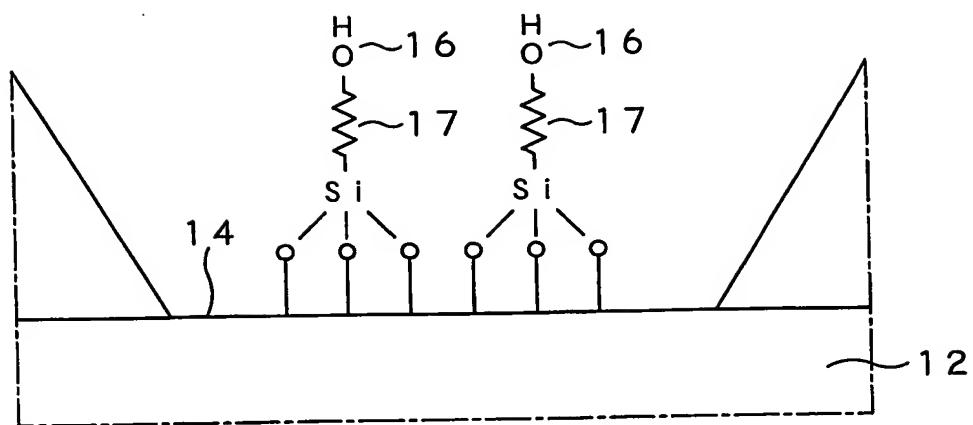
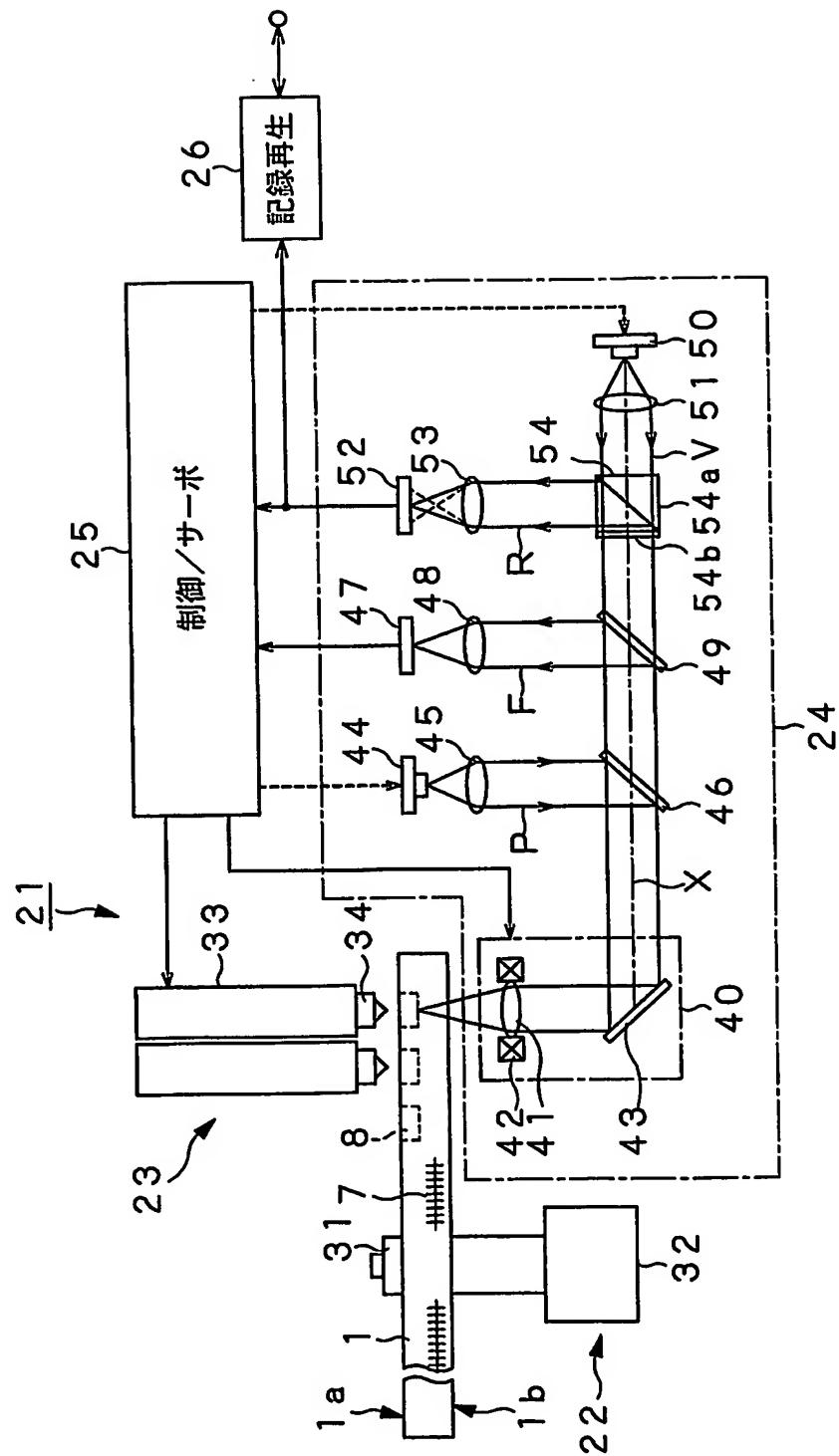


FIG.2

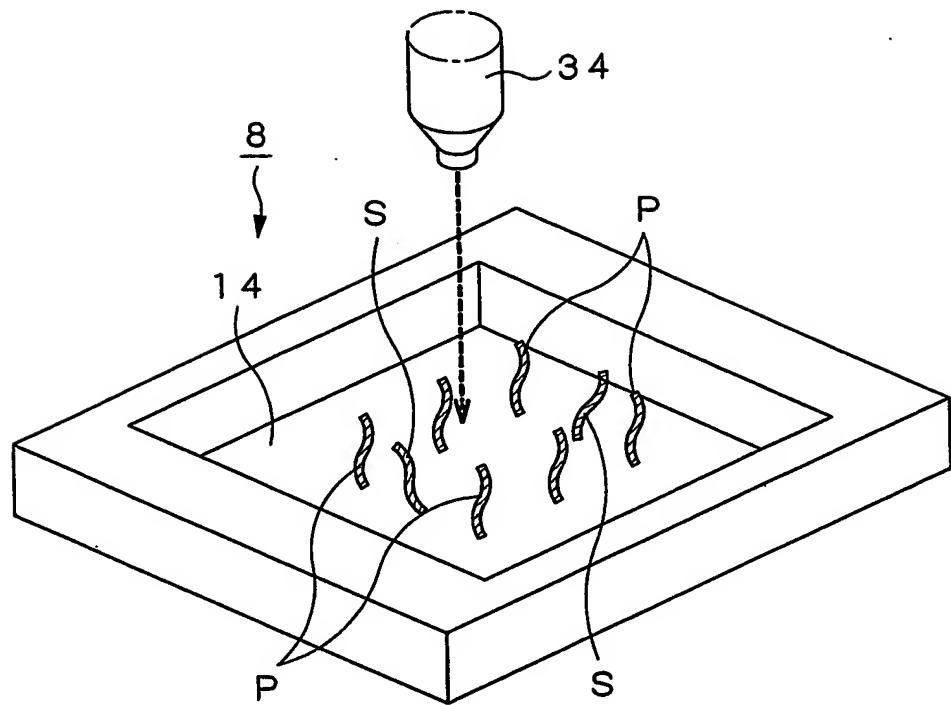
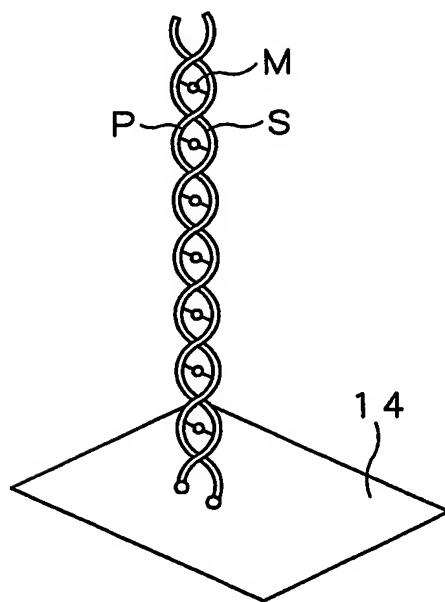
2/4



3/4



4 / 4

**FIG. 6****FIG. 7**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/008476

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.C1' G01N21/64, G01N33/53, G01N33/536

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.C1' G01N21/00-21/74, 33/48-33/98

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2004 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	JP 2004-93415 A (Sony Corp.), 25 March, 2004 (25.03.04), Full text; Figs. 1, 4 (Family: none)	1, 4, 5, 8
X	JP 2001-238674 A (Nikon Corp.), 04 September, 2001 (04.09.01), Full text; Figs. 1 to 4 (Family: none)	1-3
Y	JP 10-504397 A (The University Court of the University of Glasgow), 28 April, 1998 (28.04.98), Full text; Figs 1, 2, 3, 6 & US 5892577 A1 & WO 96/09548 A1 & EP 782705 A	4-8
X		1-3 4-8

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
09 July, 2004 (09.07.04)Date of mailing of the international search report
27 July, 2004 (27.07.04)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/008476

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2002-250726 A (Toray Industries, Inc.), 06 September, 2002 (06.09.02), Full text; Figs. 1 to 5 (Family: none)	1-3
Y	JP 3-225278 A (Idemitsu Petrochemical Co., Ltd.), 04 October, 1991 (04.10.91), Full text; Figs. 1 to 6 & WO 90/10875 A1 & EP 417305 A1 & CA 2028829 A	4-8
Y	JP 5-5741 A (Idemitsu Petrochemical Co., Ltd.), 14 January, 1993 (14.01.93), Par. No. [0025]; Fig. 4b & WO 92/06379 A1 & EP 504432 A1	4-8
A	JP 2-232563 A (Idemitsu Petrochemical Co., Ltd.), 14 September, 1990 (14.09.90), Full text; Figs. 1 to 4 (Family: none)	1-8
A	JP 4-233462 A (Idemitsu Petrochemical Co., Ltd.), 21 August, 1992 (21.08.92), Full text; Figs. 1 to 2 & WO 92/06379 A1 & EP 504432 A1	1-8
A	JP 2-269938 A (Idemitsu Petrochemical Co., Ltd.), 05 November, 1990 (05.11.90), Full text; Figs. 1 to 7 & EP 392475 A2 & CA 201429 A	1-8

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int. C17 G01N21/64

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int. C17 G01N21/00-21/74, 33/48-33/98

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2004年
日本国登録実用新案公報	1994-2004年
日本国実用新案登録公報	1996-2004年

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P X	JP 2004-93415 A (ソニー株式会社) 2004.03.25 全文、第1, 4図 (ファミリーなし)	1, 4, 5, 8
X	JP 2001-238674 A (株式会社ニコン) 2001.09.04	1-3
Y	全文、第1-4図 (ファミリーなし)	4-8
X	JP 10-504397 A (ザ ユニバーシティ コート オブ ザ ユニバーシテ イ オブ グラスゴー) 1998.04.28	1-3
Y	全文、第1, 2, 3, 6図 & US 5892577 A1 & WO 96/09548 A1 & EP 782705 A	4-8

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 09.07.2004	国際調査報告の発送日 27.7.2004
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 横井 亜矢子 電話番号 03-3581-1101 内線 3290 2W 9706

C (続き) 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2002-250726 A (東レ株式会社) 2002.09.06 全文, 第1-5図 (ファミリーなし)	1-3
Y	JP 3-225278 A (出光石油化学株式会社) 1991.10.04 全文, 第1-6図 & WO 90/10875 A1 & EP 417305 A1 & CA 2028829 A	4-8
Y	JP 5-5741 A (出光石油化学株式会社) 1993.01.14 段落番号【0025】，第4b図 & WO 92/06379 A1 & EP 504432 A1	4-8
A	JP 2-232563 A (出光石油化学株式会社) 1990.09.14 全文, 第1-4図 (ファミリーなし)	1-8
A	JP 4-233462 A (出光石油化学株式会社) 1992.08.21 全文, 第1-2図 & WO 92/06379 A1 & EP 504432 A1	1-8
A	JP 2-269938 A (出光石油化学株式会社) 1990.11.05 全文, 第1-7図 & EP 392475 A2 & CA 201429 A	1-8